INTRODUCTION A LA SPECTROSCOPIE MOLECULAIRE

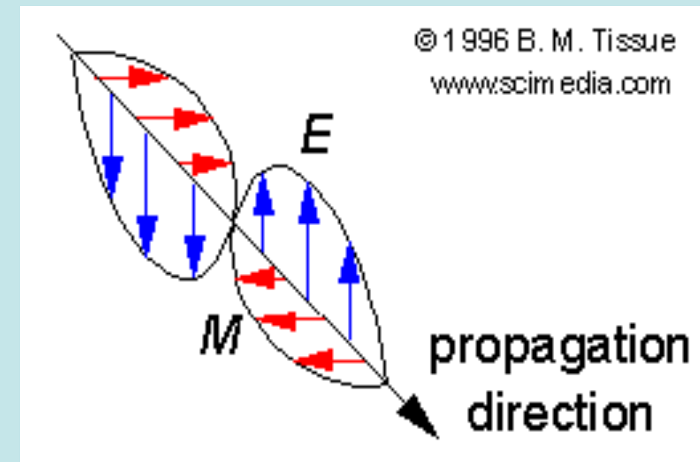
Geneviève Bourg-Heckly

VISIT…

LANZAROTE Caliente.COM

Les deux aspects de la lumière : onde et photon

1-La lumière :onde electromagnétique



Propagation d'un champ électrique **E** et
d'un champ magnétique **M**
(solutions de l'équation d'onde).

Modèle onde plane progressive monochromatique

-**E** et **M** grandeurs sinusoïdales en fonction du temps caractérisées par
- une fréquence ν (ou pulsation $\omega = 2\pi\nu$),(période $T = c/\nu$; $\lambda = cT$)
- un nombre d'onde σ (ou un vecteur d'onde $k = 2\pi\sigma$)
- la vitesse de propagation dans le vide $c = 3.10^8$ m/s

Explication de phénomènes à l'échelle macroscopique tels que : interférences, diffraction, absorption, dispersion

Les deux aspects de la lumière : onde et photon

2-la lumière : ensemble de particules (les photons)

observations expérimentales : effet photoélectrique, effet Compton

* Les échanges lumière / système matériel se font par des multiples entiers d'énergie élémentaires appelés « quanta » par **Planck**.(1905)

les « quanta » possèdent une énergie $\mathbf{E = h\,\nu}$ et
une quantité de mouvement $\mathbf{p = h/\lambda}$

Rem: $E = h\,\nu = hc/\lambda = hc\sigma$

* Postulats de **Louis de Broglie** (1920)

A toute particule libre de quantité de mouvement p d'énergie E on associe une onde plane progressive de longueur d'onde $\mathbf{\lambda = h/p}$

* Inégalités de Heisenberg : **illustration quantitative de la dualité « onde » « corpuscule »** etc.. ;

LA MATIERE :description quantique

La mécanique quantique = un outil puissant pour décrire la matière qui permet d'atteindre:

-la distribution spatiale et temporelle des particules (fonction d'onde associée à la particule)

-l'energie des particules

LA MATIERE :description quantique

-Les grandeurs physiques mesurables (énergie, moment dipolaire, position dans l'espace) sont décrites par des entités mathémathiques appelées **OPERATEURS**. (hermitiques, i.e valeurs propres réelles).

-La fonction d'onde $\Psi(\mathbf{r}, t)$--> qui décrit un sytème dans le temps et l'espace est solution de l'équation de Schrödinger

$$H\psi(\mathbf{r},t) = \mathbf{p}^2 / 2m\, \psi(\mathbf{r},t) + V\, \psi(\mathbf{r},t) = W\, \psi(\mathbf{r},t) \qquad (1)$$

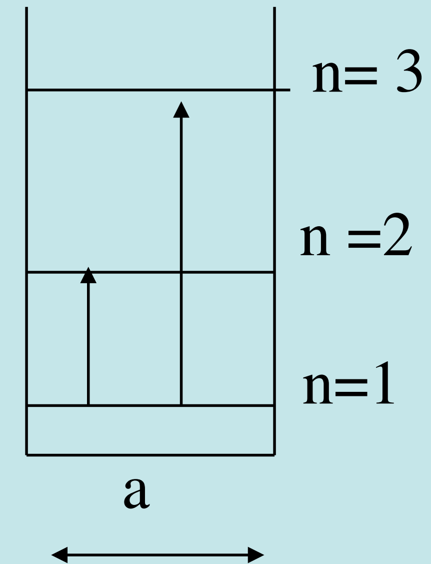
énergie totale W = énergie cinétique + énergie potentielle
H = opérateur énergie
P = op. quantité de mouvement; **V**=op. énergie potentielle
La résolution de (1) fournit une fonction:

$$\psi(\mathbf{r},t) = \phi(\mathbf{r}) \,.\, \exp\,(-i.\, E / \hbar t\,)$$

Les états stationnaires n du système correspondent à des fonctions propres $\phi_n(\mathbf{r})$ de **H** avec pour valeurs propres une énergie $\mathbf{E_n}$.

Exemple de quantification

1-Particule dans un puits de potentiel infini
------>Modèle de transition électronique



V=0 et E= $E_{c,}$ énergie cinétique

$H\phi(\mathbf{x}) = \mathbf{p}^2 / 2m .\phi(\mathbf{x})$------> $\phi_n(\mathbf{x}) = A_n \sin n \pi/ a .x$

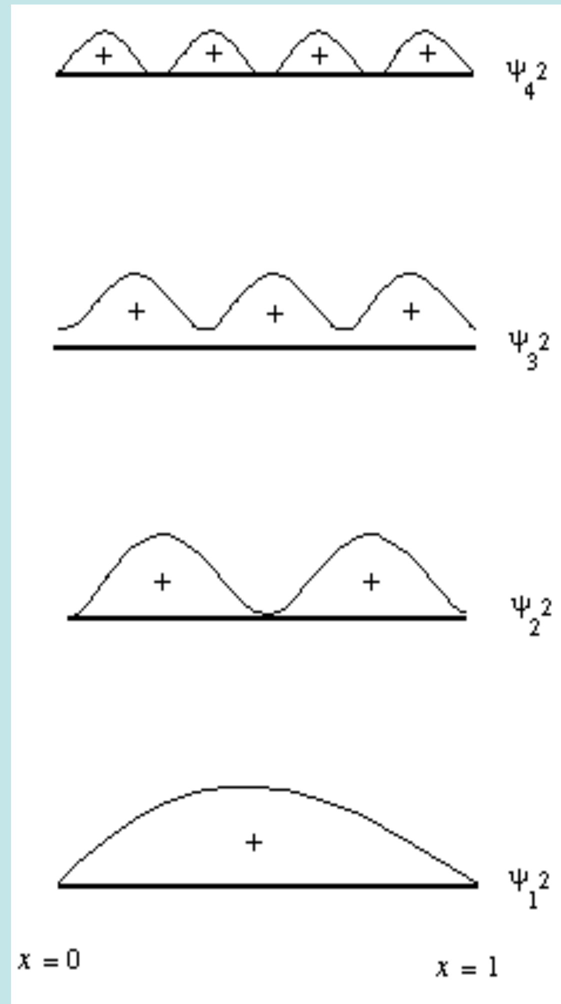
Les conditions limites imposées par le système
----> niveaux d'énergie discrets (quantifiés)

$E_n = n^2 h^2 /2 m a^2$ n= 1, 2, 3 ….

Etats électroniques

Densité de probabilité de présense $\phi_n(\mathbf{x})^2$

$\phi_n(\mathbf{x}) = A_n \sin n \pi / a .x$



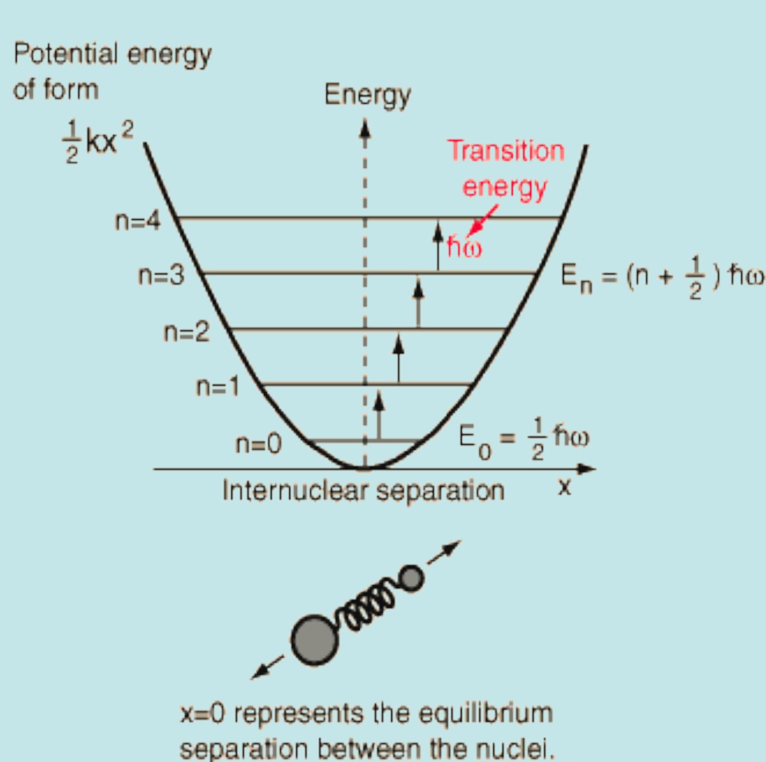
Exemple de quantification

2-Modèle de l'oscillateur harmonique---> mouvements de vibration de la molécule

Cas de la molécule diatomique

$$V(x) = \frac{1}{2}kx^2 = \frac{1}{2}m\omega^2 x^2 \qquad \omega = \sqrt{\frac{k}{m}} = \text{ angular frequency}$$

$$\omega = 2\pi \cdot \text{frequency}$$



$$\frac{-\hbar^2}{2m}\frac{d^2\Psi(x)}{dx^2} + \frac{1}{2}m\omega^2 x^2 \Psi(x) = E\Psi(x)$$

avec $\Psi(x) = Ce^{-\alpha x^2/2}$

$$E_n = (n + \tfrac{1}{2})\hbar\omega \qquad n = 0,1,2,3 \ldots$$

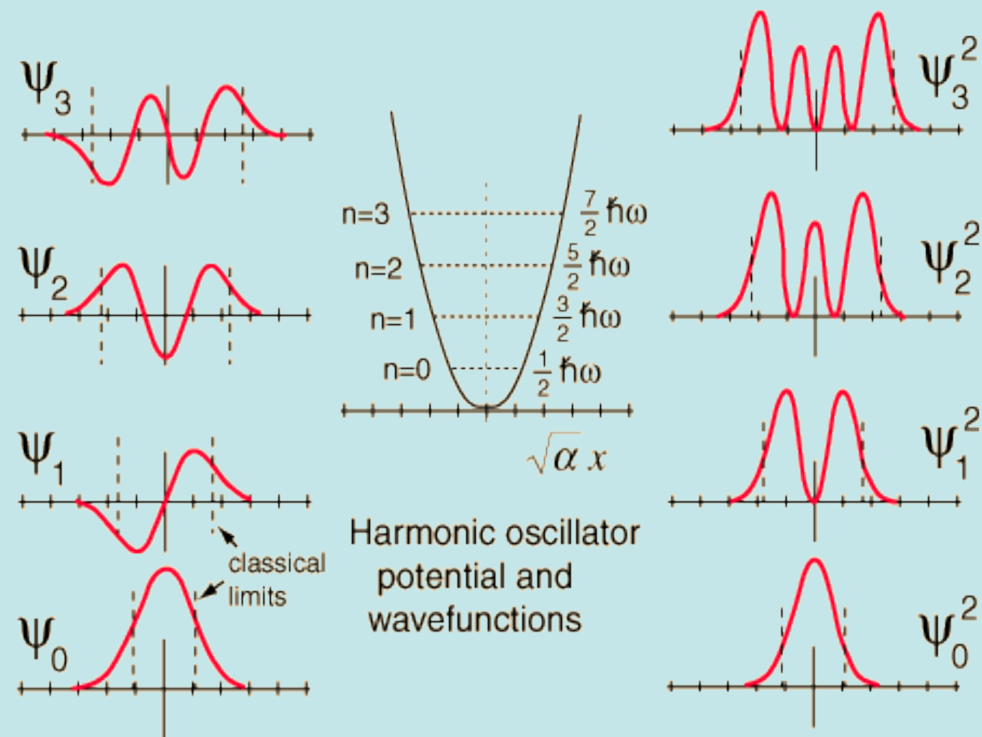
$\omega = 2\pi(\text{frequency})$

$\hbar$ = Planck's constant /2π

3- Modèle du rotateur rigide -----> mouvement de rotation de la molécule

Etats vibrationnels

$$\Psi(x) = Ce^{-\alpha x^2/2}$$



LES ORBITALES ATOMIQUES

La distribution spatiale et l'énergie des électrons dans 1 atome sont caractérisées par une fonction d'onde solution de l'équation de Schrödinger L'énergie correspondante est bien définie.

dP = $\psi\psi^*$**dV** = densité de probabilité de présence de l'électron dans un volume dV autour d'un point de l'espace ------> notion d'orbitale atomique

LES ORBITALES ATOMIQUES

Systèmes hydrogénoïdes (un seul électron)

Orbitales s: symétrie sphérique

Orbitales p: symétrie de révolution autour des axes x, y, z

Systèmes non hydrogénoïdes (deux ou plusieurs électrons)

- Calcul exact des fonctions d'onde impossible
- Résultats qualitatifs restent valables
- Orbitales s: symétrie sphérique
- Orbitales p: symétrie de révolution autour des axes x, y, z

LES ORBITALES ATOMIQUES

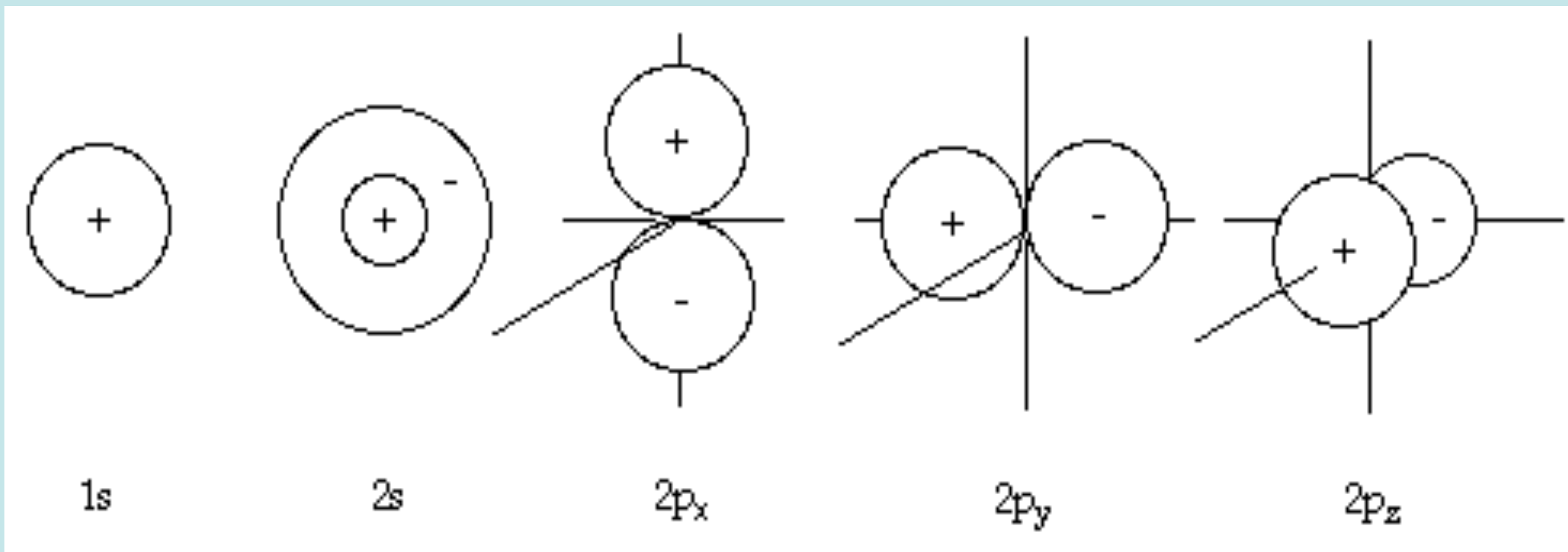
Chaque orbitale atomique est définie par 3 nombres quantiques :

n ---> nombre quantique principal n=1, 2, 3 etc *énergie d'une couche*

l----->nombre quantique azimuthal (moment magnétique angulaire) 0, 1, 2, ... n-1
énergie d'une sous-couche

l=0-->orbitale s ; l=1---> orbitale p ; l=2 orbitale d etc…

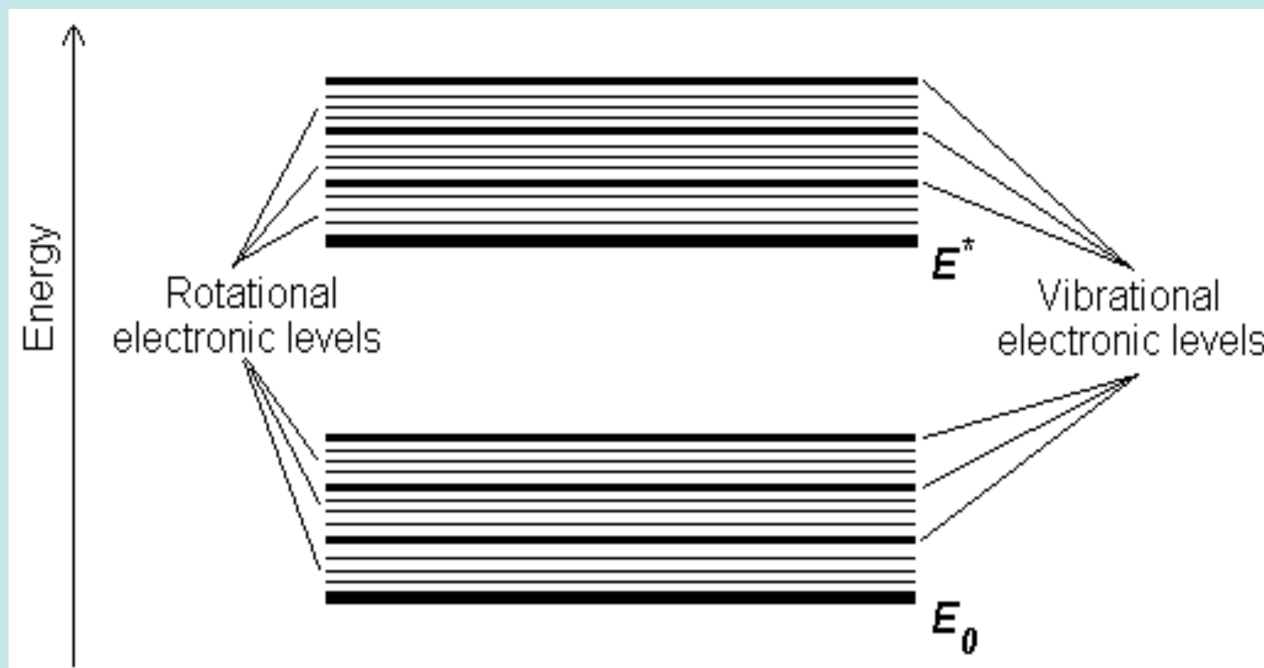
m----> nombre quantique magnétique m --->2l +1 valeurs (ex : l = 1 ; m= -1, 0, +1)
*orientation des orbitales dans un champ **B***



LES DIFFERENTS ETATS D'ENERGIE D'UNE MOLECULE

L'énergie totale moléculaire est la somme des différentes énergies. Seule l'énergie de translation n'est pas quantifiée.

$$E_T = E_{elect} + E_{vib} + E_{rot} + E_{trans}$$



E_1 =1er niveau électronique excité (S_1)

E_0 =niveau électronique fondamental (S_0),

L'existence de niveaux d'énergie définis = base de la spectroscopie d'absorption (UV -Visible, IR) et de la spectroscopie d'émission

LES DIFFERENTS ETATS D'ENERGIE D'UNE MOLECULE

ΔE typiques entre différents niveaux d'énergie:

Entre niveaux rotationnels ΔE = 10 J/mol **Microondes**

Entre niveaux vibrationnels ΔE = 1 à 40 kJ/mol **Infrarouge**

Entre niveaux électroniques ΔE = qqs 100 kJ/mol **UV - Visible**

LES ORBITALES MOLECULAIRES

L.C.A.O combinaison linéaire d'OA: $\psi = c_A \psi_A \pm c_B \psi_B$

Orbitales σ

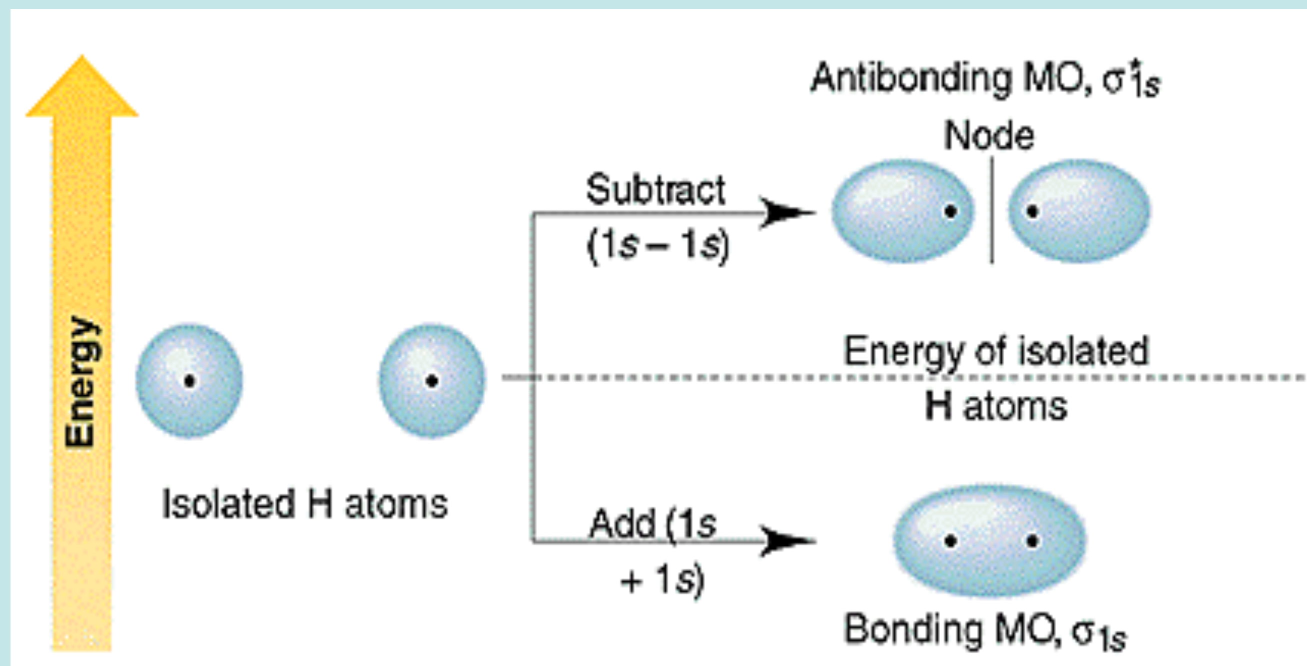
Orbitales π

Orbitales n

+ ---> orbitales liantes (addition des fonctions d'onde des atomes)

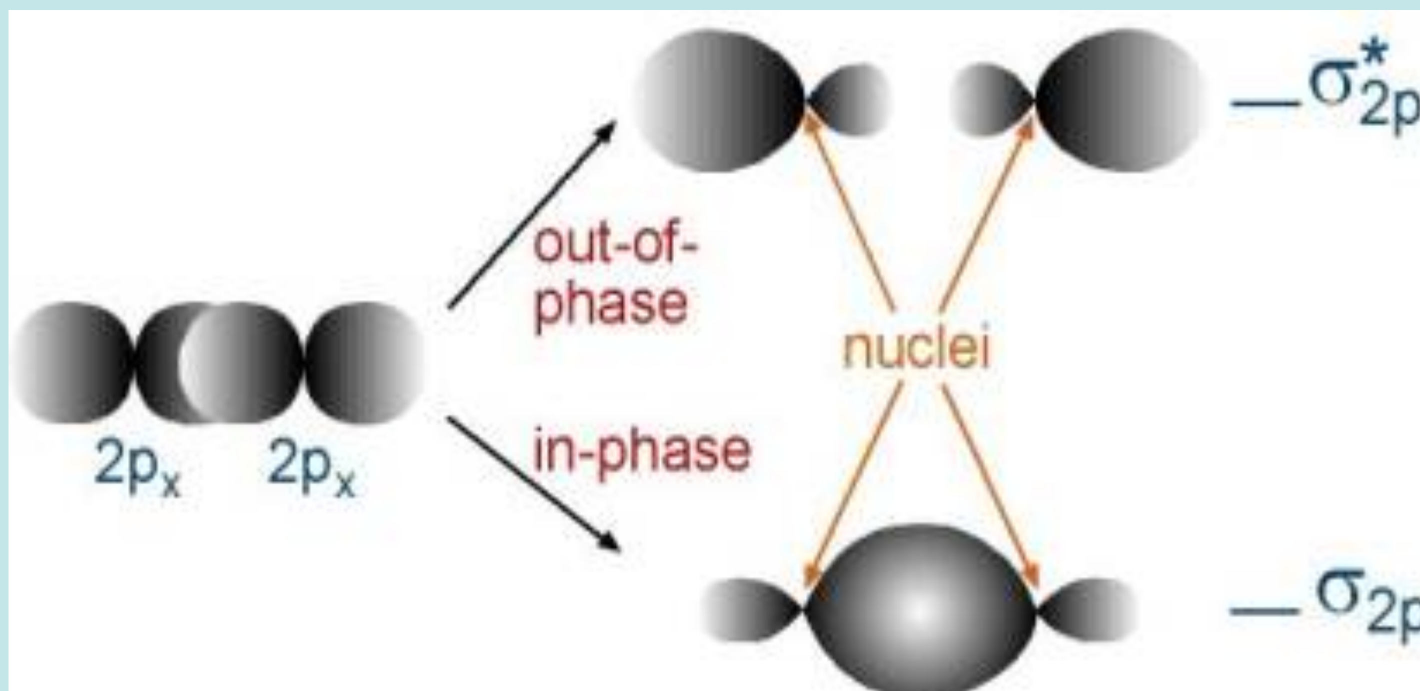
- ---> orbitales anti liantes σ*, π*

La densité électronique est plus forte entre les 2 noyaux que si la densité des nuages électroniques des 2 atomes s'additionnait simplement



Orbitales σ

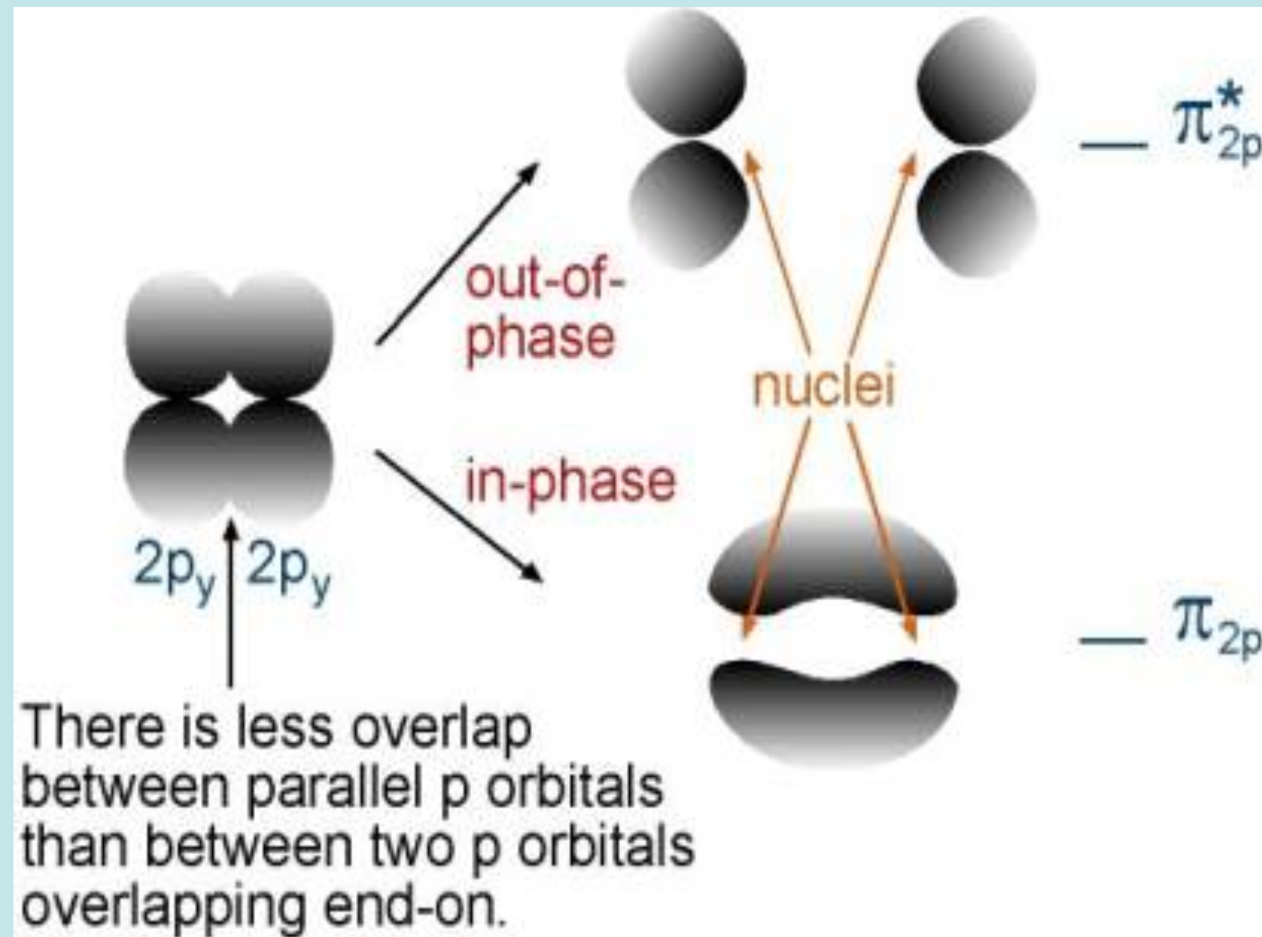
L'axe de symétrie de révolution des orbitales atomiques est conservée
La zone de recouvrement peut être importante ⇒ les liaisons σ sont très stables (**s-s, s-**p, p-p)



Orbitales Π

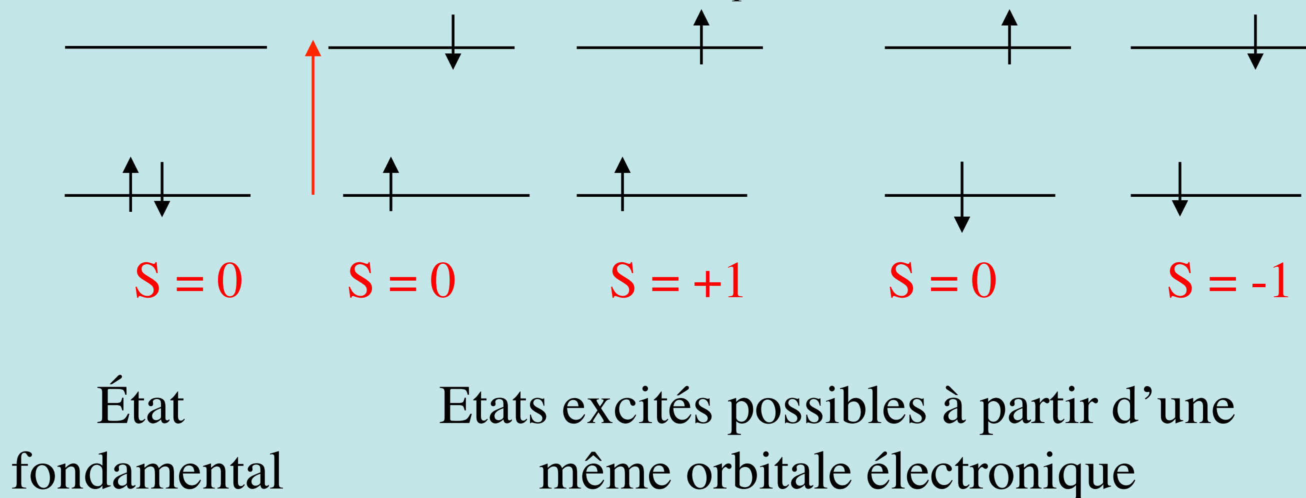
Concernent deux orbitales p qui se recouvrent latéralement

La zone de recouvrement est peu importante ⇒ les liaisons π sont faibles



LES ETATS EXCITES ELECTRONIQUES

- Etat excité = e sur orbitale moléculaire élevée + spin
- s = composante sur un axe z choisi du moment cinétique de l'électron
  Valeurs de s: +1/2, -1/2
- Principe d'exclusion de Pauli:
  Au plus 2 électrons de spins opposés par orbitale moléculaire
- De façon générale dans l'état fondamental, les é sont rassemblés par paires de spins opposés $\Rightarrow S = \sum s = 0$ (exceptions: O_2, NO). L'état est dit singulet S_0
- Pour l'état excité, 4 solutions possibles
  un état singulet de multiplicité1 (S = 0) désigné par S_1
  un état triplet de multiplicité 3 (S = 0, -1, +1) indiscernables dans les conditions habituelles, désigné par T_1



Transitions électroniques et règles de sélection

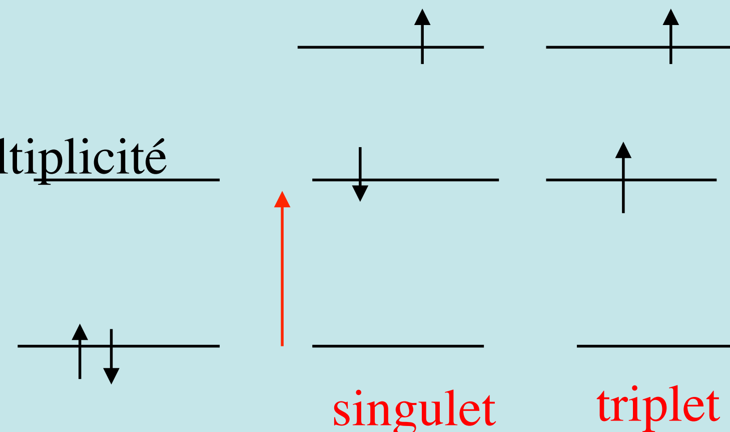
Règle de symétrie

Transitions permises: changement de symétrie
Permises π π*
Interdites n π *

Règle de multiplicité

Transitions permises entre états de même multiplicité
2 [ns]+1 = 1 singulet s=+/- 1/2

2 [ns] + 1 = 3 triplet



Absorption pour les différentes transitions électroniques

Transitions σ → σ*

Maximum d'absorption correspondant aux transitions σ → σ* n'appartiennent **pas** à la région UV-Vis. (200 - 700 nm)

Ex: méthane (C-H bonds ---->σ → σ* ------> absorbance maximum à 125 nm)

Transitions n → π* and π → π*

Molécules organiques: absorption dans la région 200 - 700nm. Ces transitions n'existent que s'il existe un groupement insaturé dans la molécule (π electrons).

n → π*: en présence d'un hétéroatome (O, N, S) dans la molécule organique

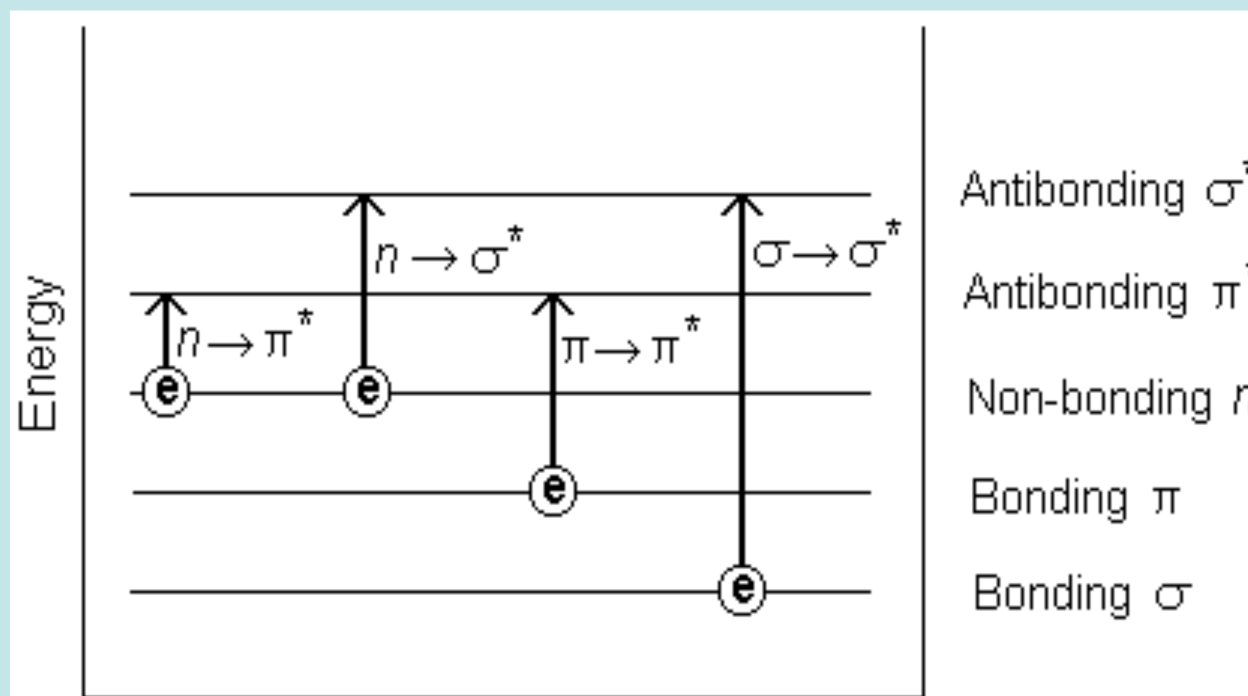
-transitions π π* : coefficients d'absorption molaire élevés

= 1000 -100 000 mol^{-1} cm^{-1} .-qui traduit le caractère permis de ces transitions.

-transitions n π* coefficients d'absorption molaire plus faible

= 100 and 1000 mol^{-1} cm^{-1} qui traduit le caractère 'interdit' de ces transitions

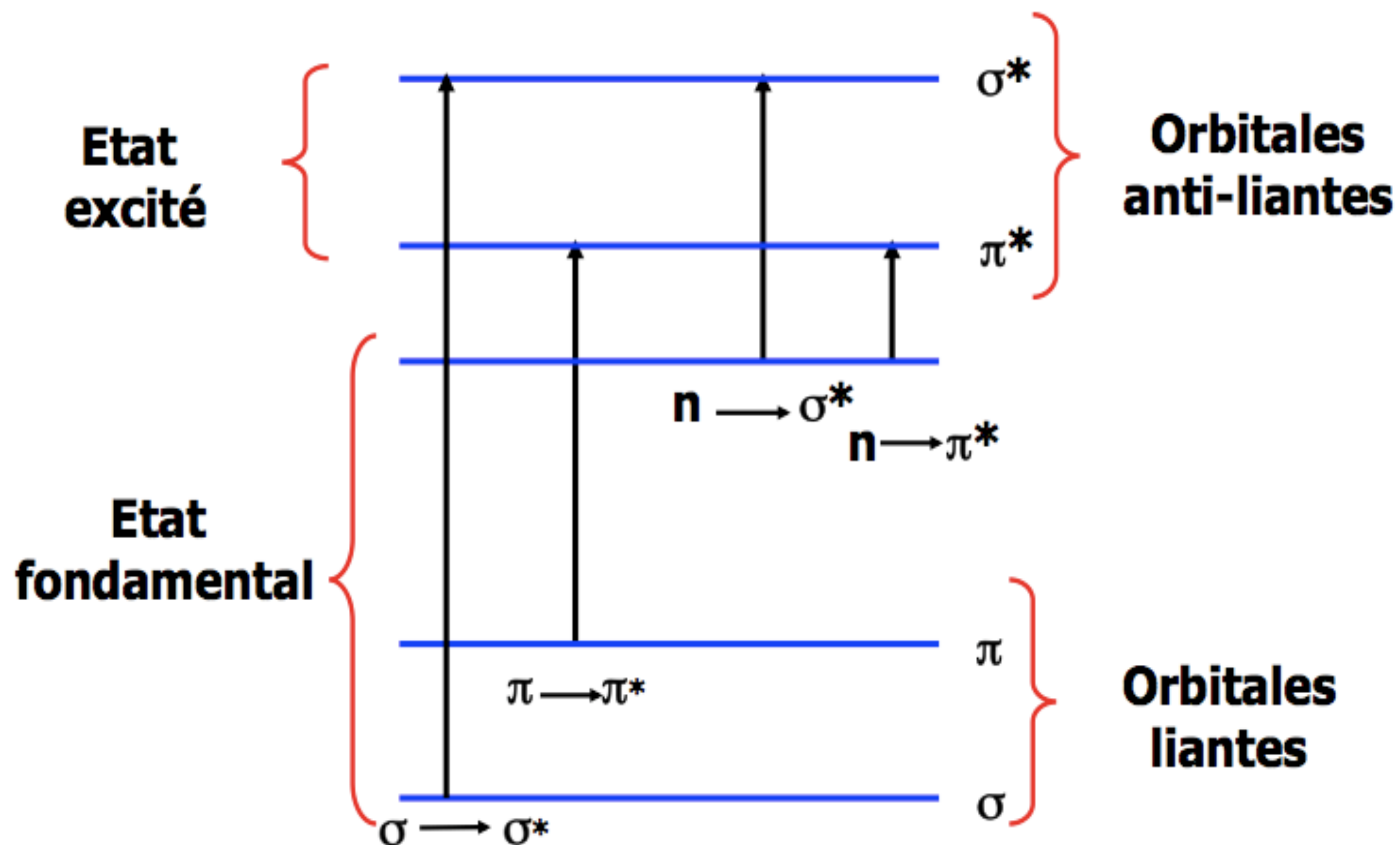
Transitions électroniques et orbitales moléculaires



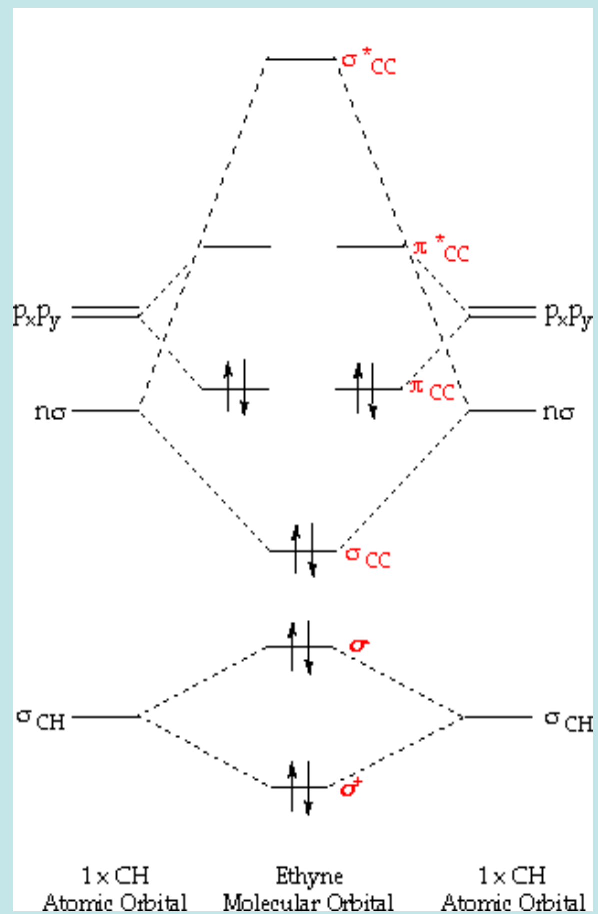
$n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \pi^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$

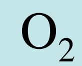
SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE

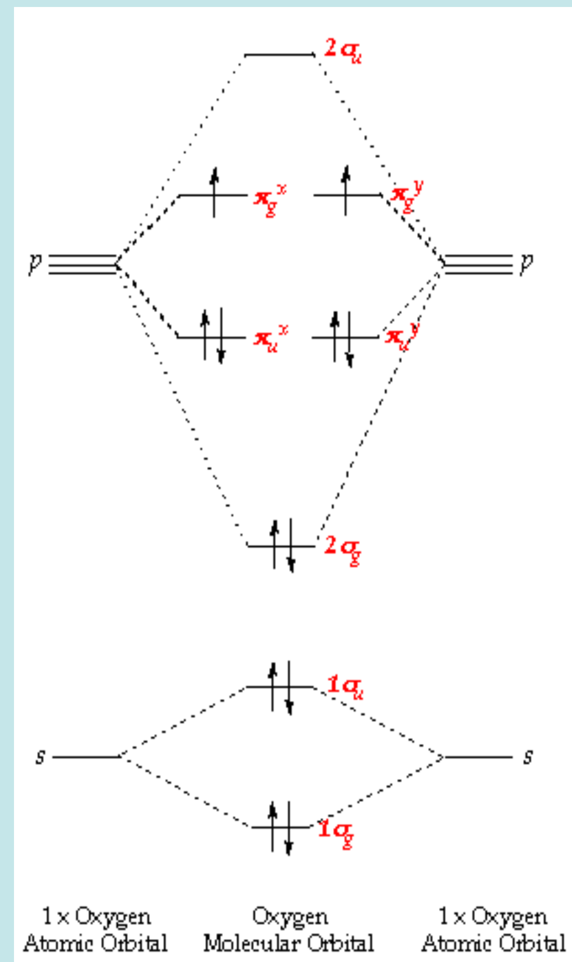
ORBITALES MOLÉCULAIRES



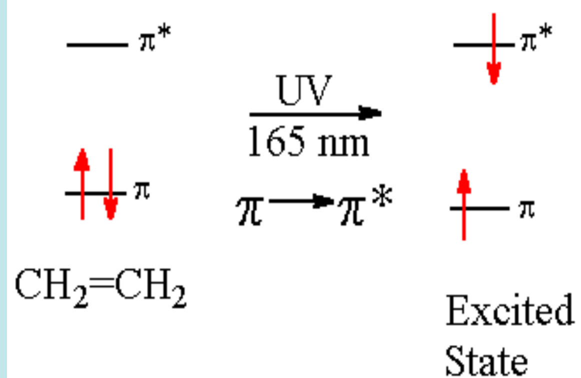

C_2H_4

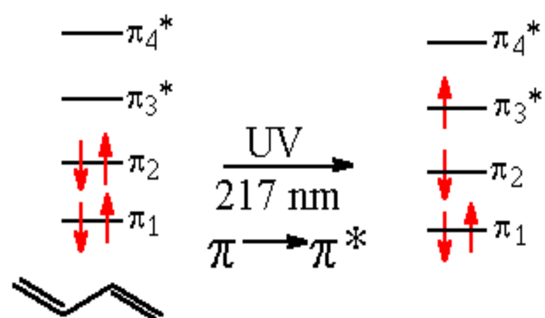

σ*CC
π*CC
PxPy
PxPy
πCC
nσ
nσ
σCC
σ
σCH
σCH
σ*
1 x CH
Atomic Orbital
Ethyne
Molecular Orbital
1 x CH
Atomic Orbital


O_2


2σu
πgx
πgy
p
p
πux
πuy
2σg
1σu
s
s
1σg
1 x Oxygen
Atomic Orbital
Oxygen
Molecular Orbital
1 x Oxygen
Atomic Orbital

Absorption of Ultraviolet Light









The longer the pi system, the longer the wavelength, the lower the energy.

DIAGRAMME DE JABLONSKI

Que se passe-t-il après l'absorption?

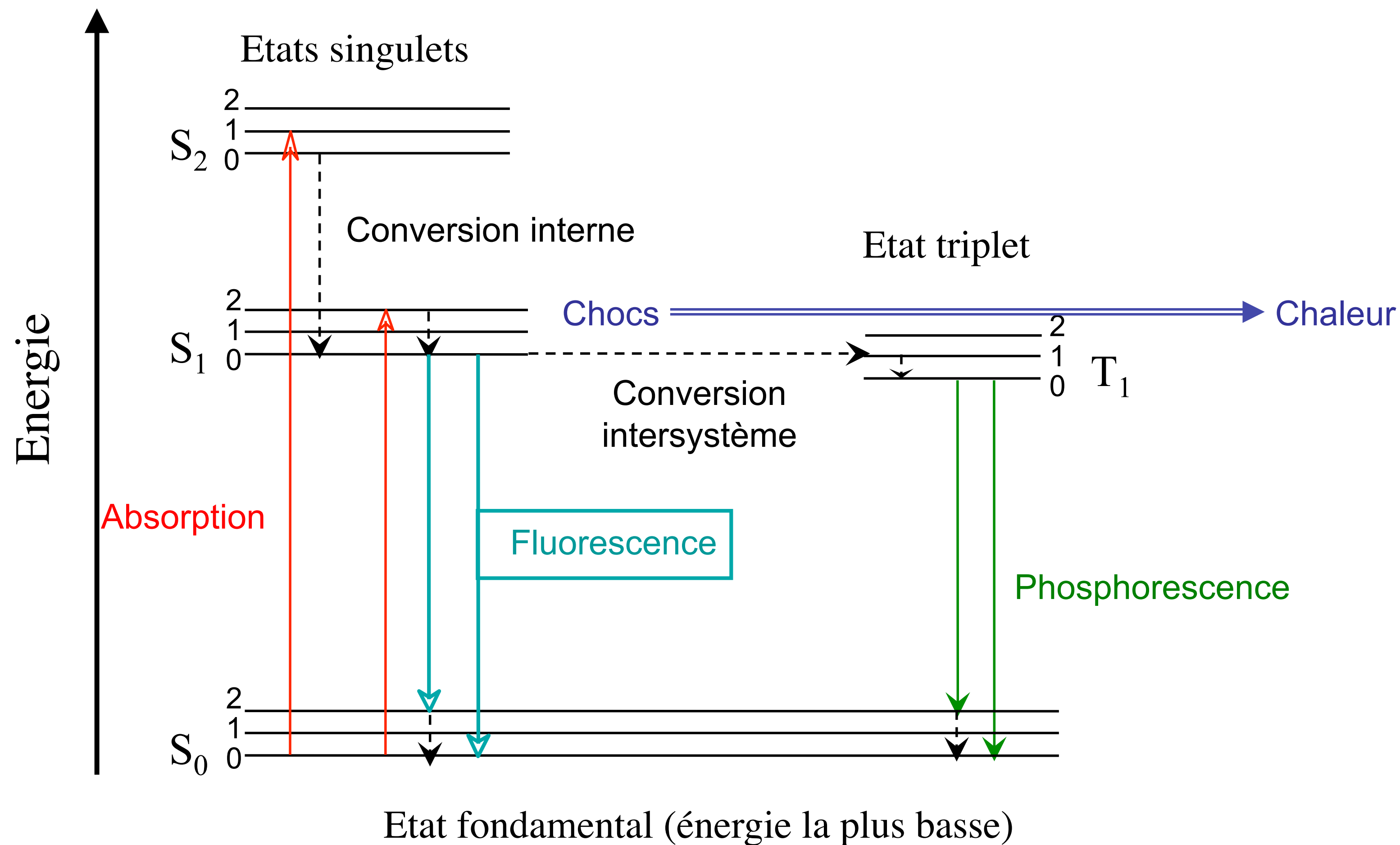
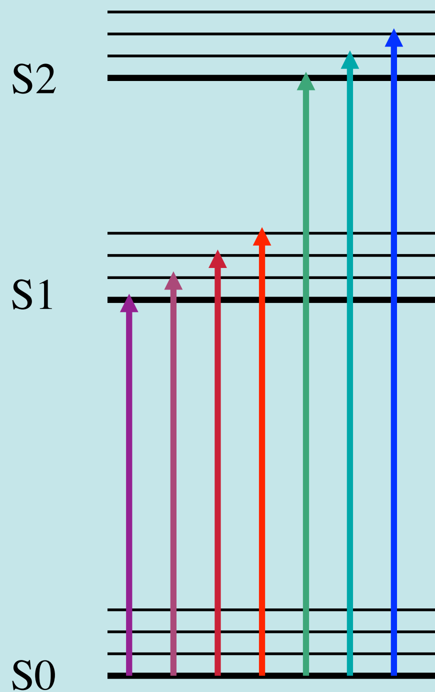


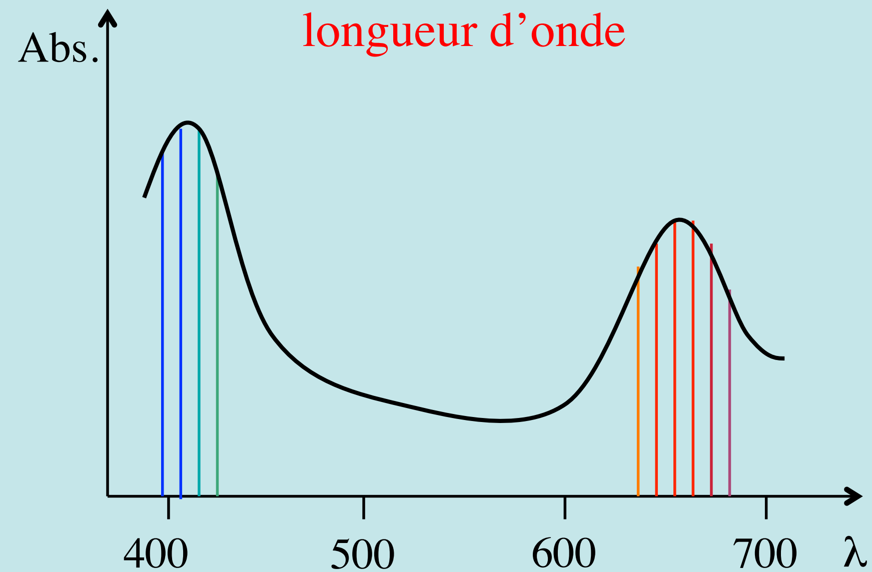
Diagramme d'énergie dit de Jablonski

Construction du spectre d'absorbance
→ on regarde à <u>différentes</u> longueurs d'onde :



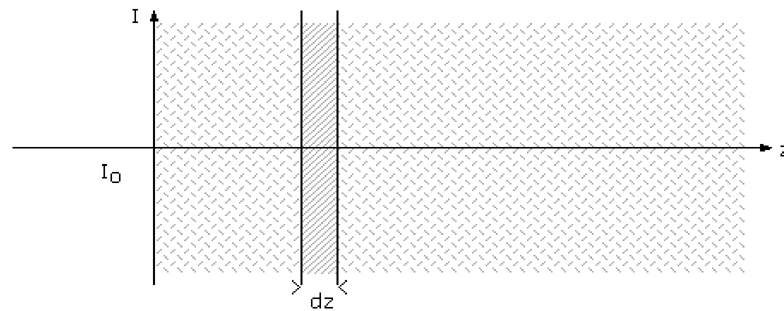
Spectre d'absorbance :

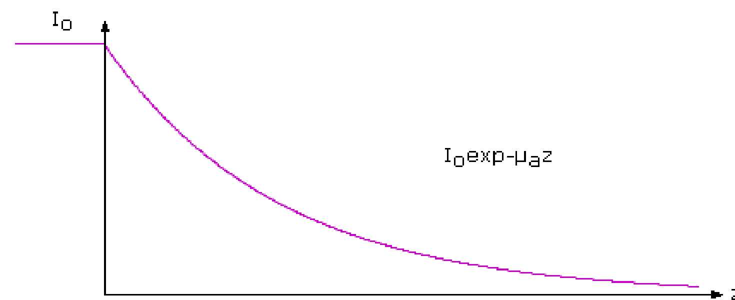
<u>Courbe de niveau</u> auquel le composé absorbe la lumière en fonction de la longueur d'onde



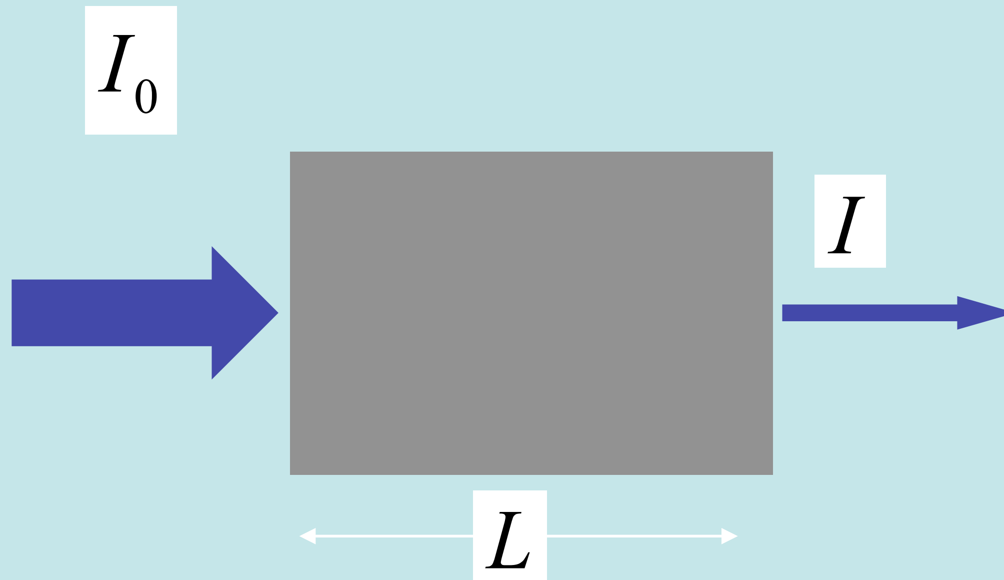
Diapositive S. Bonneau

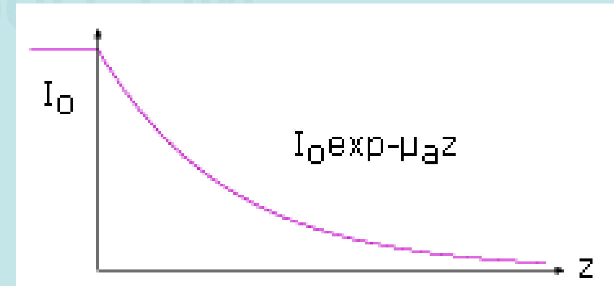
Absorption: point de vue macroscopique
Loi de Beer Lambert





Absorption: point de vue macroscopique
Loi de Beer Lambert





Transmission
ou transmittance

$$T_\lambda = \frac{I_\lambda}{I_{\lambda 0}} \times 100$$

Absorbance
ou Densité optique
ou Extinction

$$A_\lambda = \text{Log}_{10} \frac{I_{\lambda 0}}{I_\lambda}$$

$$\frac{I}{I_0} = 10^{-\varepsilon cL} = e^{-\mu_a L}$$

molar extinction

concentration

$$\mu_a \equiv \ln 10 \cdot \varepsilon c$$

"absorption coefficient" [1/length]

Absorption: point de vue macroscopique
Loi de Beer Lambert

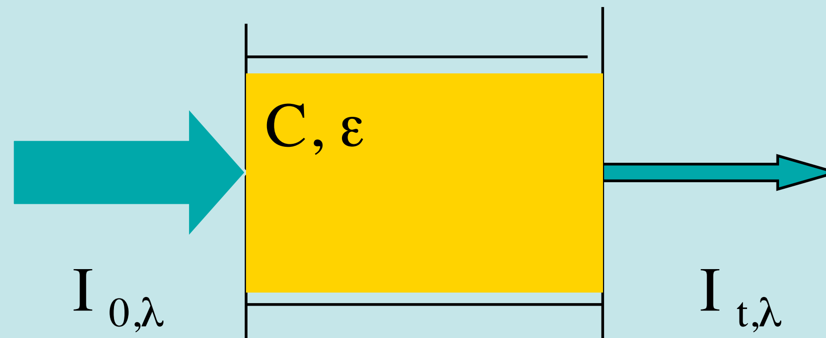
- loi de Beer - Lambert : $I(z) = I(z = 0) \exp - \mu_a z$

- μ_a = coefficient d'absorption en cm-1
caractérise une molécule donnée à une longueur d'onde donnée

- spectre d'absorption : $\mu_a = f(\lambda)$

- profondeur de pénétration $\delta = 1/\mu_a$ =
profondeur à laquelle il reste 37 % de l'intensité initiale I(z = 0)

Absorption: point de vue macroscopique
Loi de Beer Lambert



$A_{\lambda} = \log I_{0,\lambda} / I_{t,\lambda} = \varepsilon_{(\lambda)} . l . C$

- C = concentration (M)
- l = parcours optique (cm)

$\varepsilon_{(\lambda)}$ = coefficient d'absorption molaire ($L moles^{-1} . cm^{-1}$)

$\varepsilon_{(\lambda)}$ = f (λ) ---> spectre d'absorption

Remarque: transmittance ->$T_{\lambda} = I_{\lambda} / I_{0\,\lambda}$ (A = -log T)

Les principales bandes d'absorption

On distingue 4 types de bandes d'absorption dans les spectres UV des molécules organiques. Elles sont caractérisées par la longueur d'onde de leur maximum d'absorption (λ_{max}) et par l'intensité de ce maximum

Bandes R :

Elles sont dûes à une transition électronique n $\rightarrow \pi^*$.

Lorsqu'un hétéroatome, porteur de doublet(s) non-apparié(s) n, fait partie d'un système insaturé ou est conjugué avec un tel système, une transition de faible énergie peut se produire : passage d'un électron n non liant dans une orbitale anti-liante π^*

Ces **bandes R** présentent en général une faible absorption molaire avec le plus souvent ε_{max} < 100 $M^{-1}.cm^{-1}$

Les principales bandes d'absorption

Bandes B (Benzénoïdes) :

Egalement dûes à une transition électronique $\pi \rightarrow \pi^*$

Elles apparaissent dans les spectres de molécules aromatiques ou hétéroaromatiques

Caractéristiques de ces bandes B :

ε_{max} < 1 000 $M^{-1}.cm^{-1}$ et structure fine

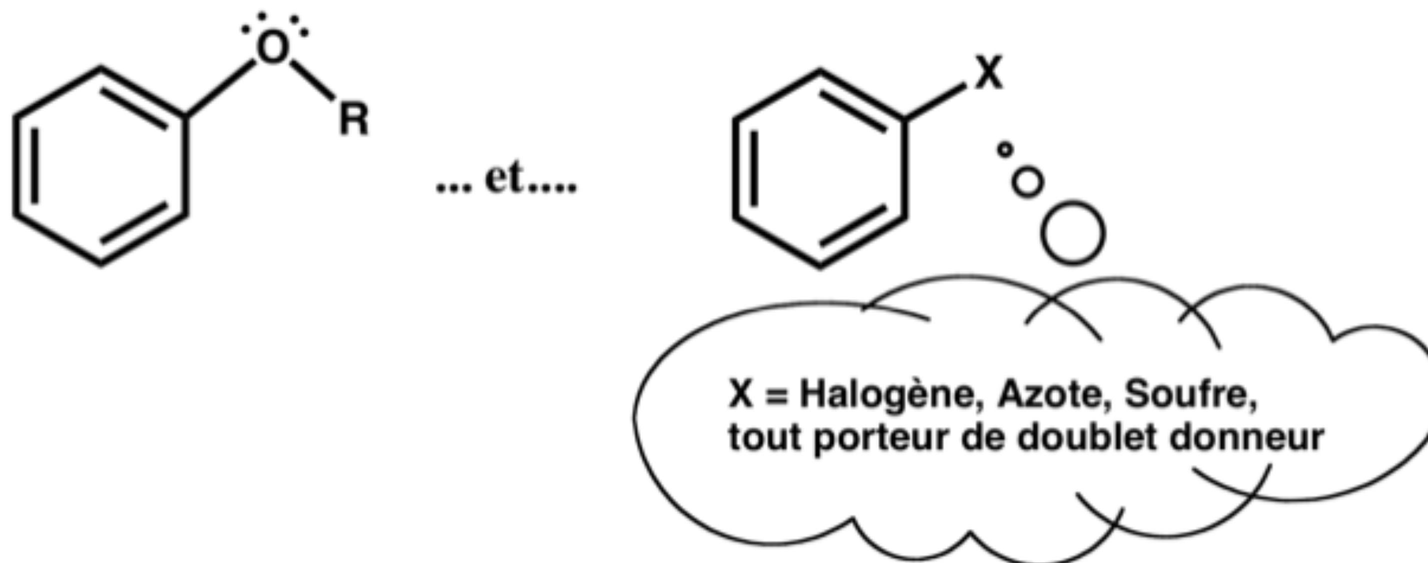
Bandes E (Ethyléniques) :

Egalement dûes à une transition électronique $\pi \rightarrow \pi^*$

Elles apparaissent dans les spectres de molécules aromatiques substituées par des groupements auxochromes

Les principales bandes d'absorption

Un groupement lié au cycle aromatique par un hétéroatome porteur de doublet(s) libre(s) est un substituant auxochrome



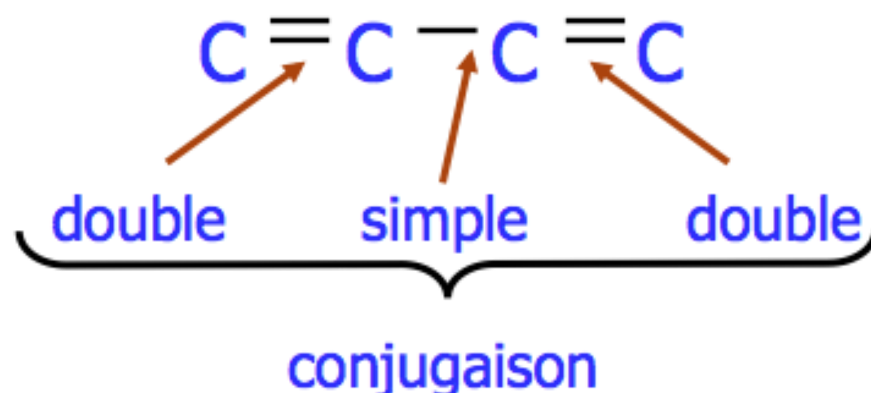
Caractéristiques des bandes E : les ε_{max} varient entre 2 000 et 14 000 $M^{-1}.cm^{-1}$

Les principales bandes d'absorption

Bandes K (Konjugierte) :

Elles sont dûes à une transition électronique $\pi \rightarrow \pi^*$

Elles apparaissent dans les spectres de molécules possédant un système de doubles liaisons conjuguées :



Les bandes K sont caractérisées par des absorptions molaires élevées : ε_{max} > 10 000 $M^{-1}.cm^{-1}$

Remarques diverses :

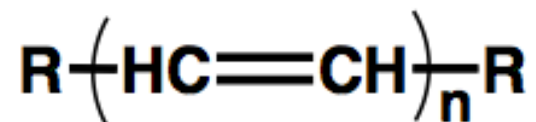
S'il n'y a pas de perturbation amenée par la présence d'un hétéroatome ou d'une conjugaison, tous les composés qui présentent le même chromophore absorbent pratiquement à la même longueur d'onde

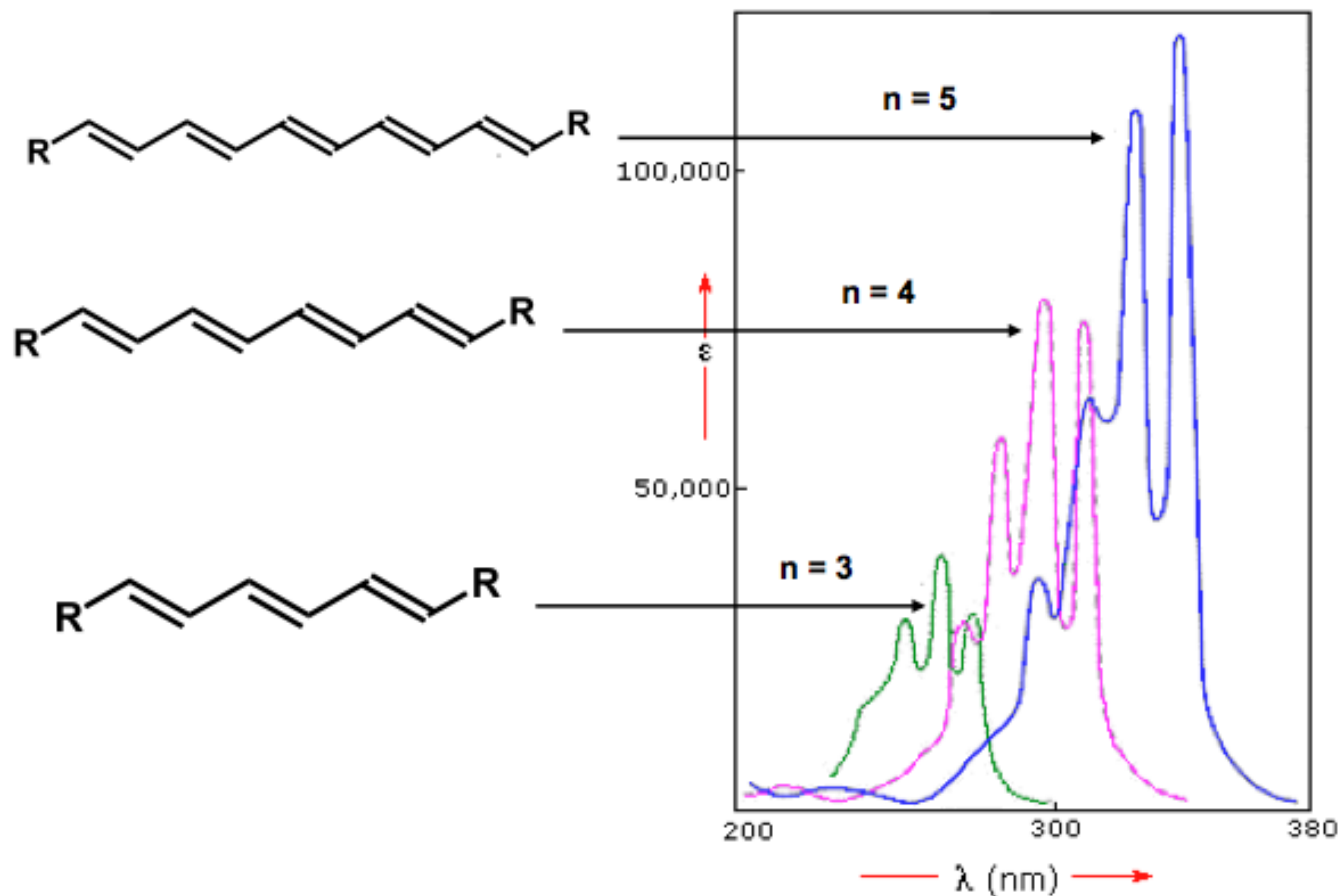
Lorsque des chromophores sont séparés par au moins 2 liaisons simples, ils se comportent comme des chromophores isolés

Par contre, lorsque 2 chromophores sont conjugués, ils se comportent comme une nouvelle individualité et les spectres UV-visible se trouvent totalement transformés

L'effet bathochrome rencontré avec l'allongement d'un système conjugué s'accompagne d'une forte augmentation du coefficient d'absorption ε (effet hyperchrome)

Spectres UV de polyènes conjugués





Les principaux chromophores

Chromophore	Formule	λmax (nm)	εmax ($M^{-1}cm^{-1}$)
Amine	$-NH_2$	195	2800
Ethène	C=C	190	8000
Carbonyle	C=O	195	1000
Nitro	$-N^{\oplus}(=O)O^{\ominus}$	220-230	1000
Azo	N=N	285-400	3-25
Benzène		185-202-255	
Naphtalène		220-275-312	
Anthracène		252-375	

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE

LES CHROMOPHORES ELEMENTAIRES

Il existe des chromophores « élémentaires » qui, en fonction de leurs <u>propriétés électroniques</u>, **absorbent certaines longueurs d'ondes** UV-visible

Chromophores élémentaires	λmax (nm)	ε max ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)
> C = C < (alcène)	173*	10000
- C ≡ C - (alcyne)	178*	2000
> C = O (cétone)	290	16
- CH = O (aldéhyde)	279	15
- COOH (acide)	208	32
- COCl (chlorure d'acide)	220	100
- CONH2 (amide)	220	63
- COOR (ester)	211	57
- NO2 (nitro)	214	17
- N = N - (azométhane)	338	4

* Dans le n-heptane

Diapositive S. Bonneau

LES CHROMOPHORES BIOLOGIQUES

Chromophores	λmax	εmax	Remarques
Acides nucléiques			
Adénosine	260	15000	
Guanosine	255	14000	
Thymidine	265	10000	
Cytidine	270	9000	sensible au pH
ADN double brin	260		1U.D.O.=50 µg/ml
ADN simple brin	260		1U.D.O.= 33 µ g/ml
ARN	260		1U.D.O.= 40 µ g/ml
Protéines			
Liaison peptidique	190	4-8000	conformation
Pont disulfure	250	300	
Phénylalanine	257	200	
Tyrosine	275	1400	sensible au pH
Tryptophane	280	5600	
Hèmes, coenzymes...			
Flavine (FMN,FAD)	450	12700	
NADH, NADPH	338	6400	
Hème II bande α	550	27700	
Hème II bande Soret	400	120000	(couleur rouge)
Cis-rétinal	498	4200	rhodopsine
Chlorophylle A	660-680	10000	(couleur verte)

Diapositive S. Bonneau

Exemple : le β−carotène (pro-vitamine A)

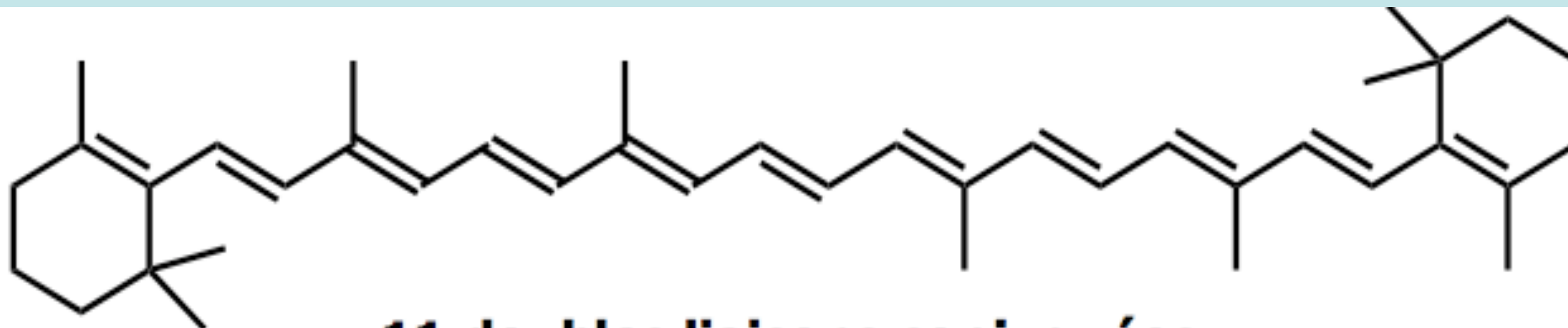
Les caroténoïdes constituent une classe importante de pigments naturels. Ils sont responsables de la couleur jaune ou orangé de nombreux fruits et légumes. Le β-carotène est abondant dans les carottes (bien sûr), mais aussi des citrouilles, abricots et nectarines. Les légumes de couleur vert foncé comme les épinards et les brocolis en sont également une source importante. Dans ces légumes, la couleur orange est masquée par la couleur verte intense de la chlorophylle. On peut s'en rendre compte sur les feuilles en automne ; quand les feuilles meurent en automne, la chlorophylle disparaît peu à peu, et la couleur jaune/orangé/rouge des caroténoïdes, plus stables, prend le dessus.



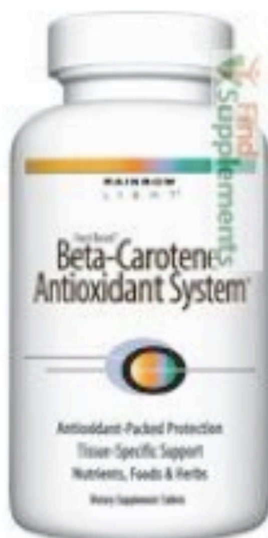


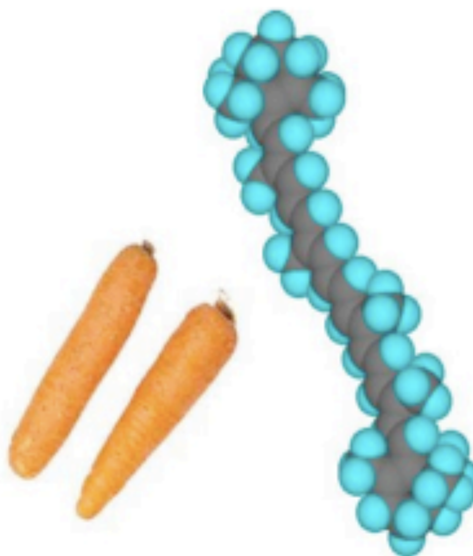
SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE

Exemple : le β−carotène (pro-vitamine A)



11 doubles liaisons conjuguées









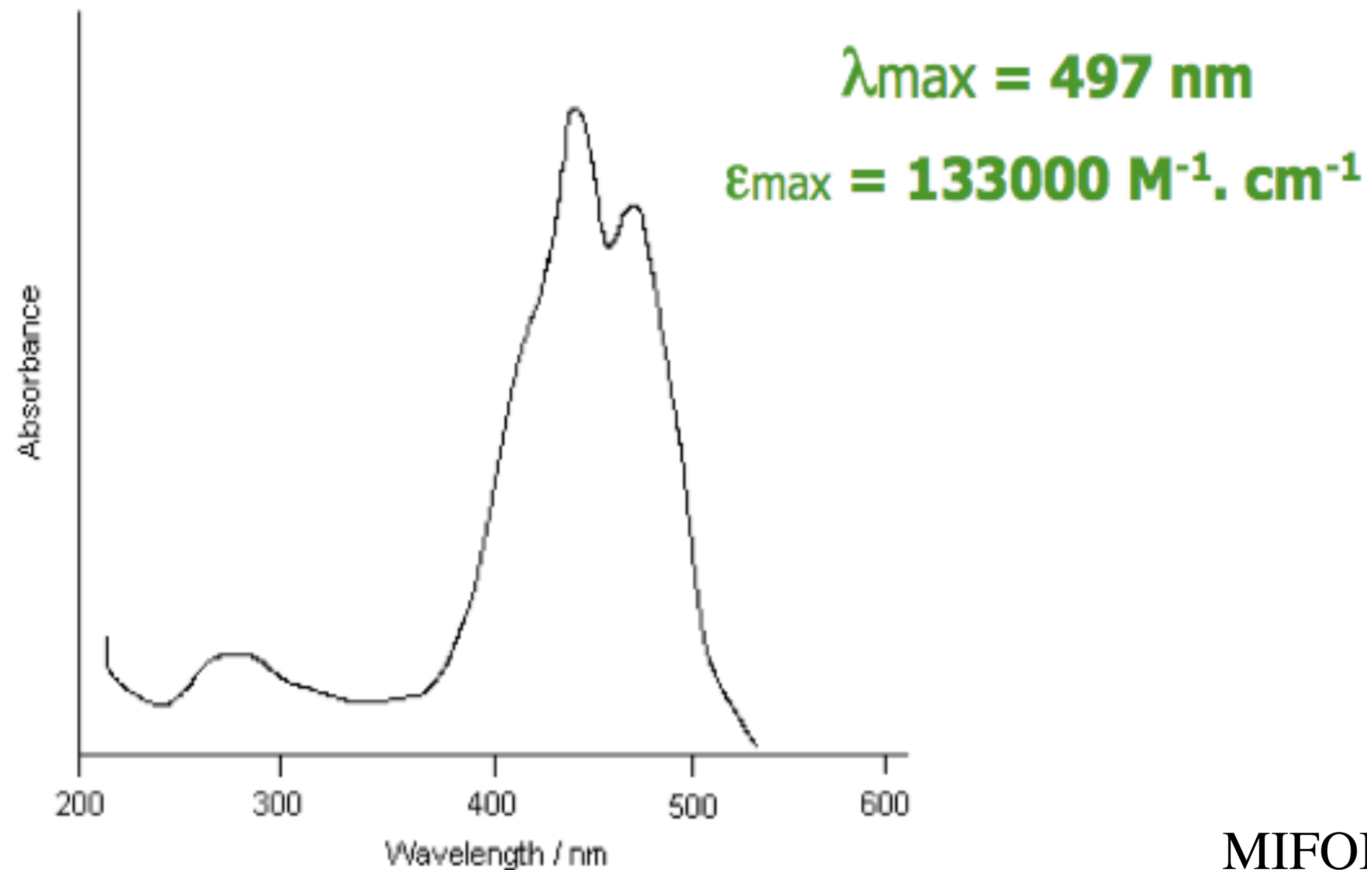
Des pastilles de β-carotène sont vendues dans les para-pharmacies comme antioxydant

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE

Exemple : le β−carotène (pro-vitamine A)

Spectre d'absorption UV-visible du β-carotène





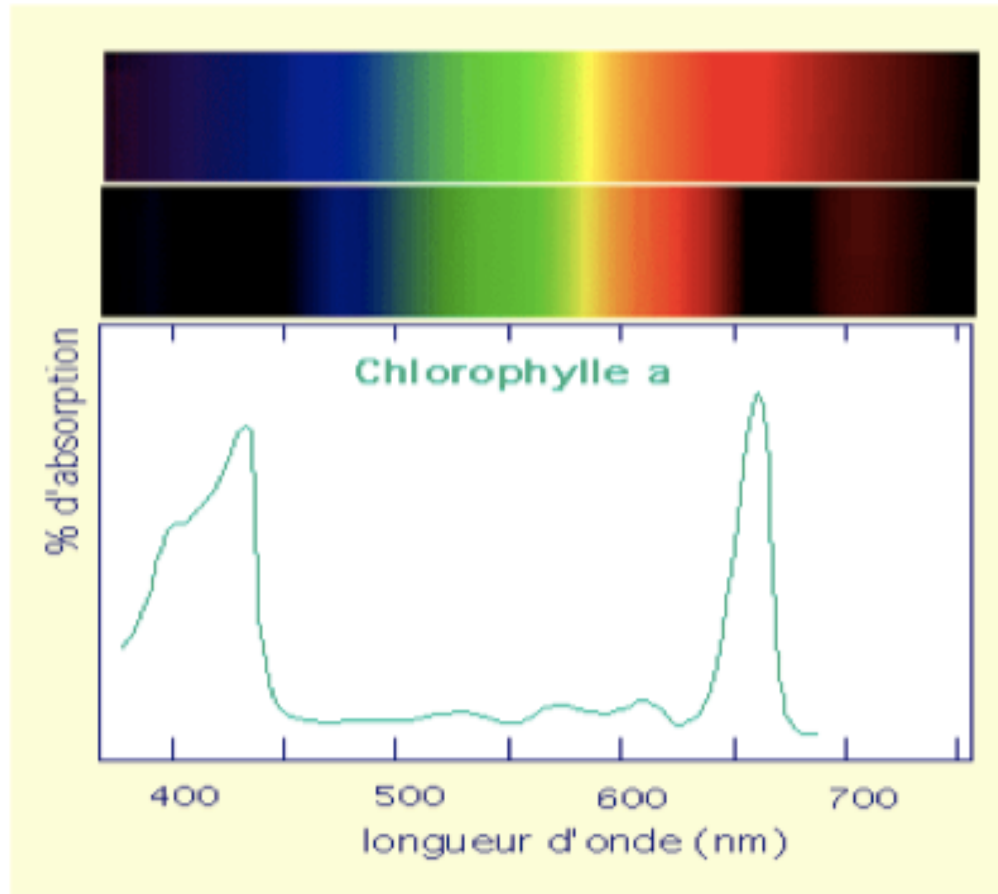
λ_{max} = 497 nm

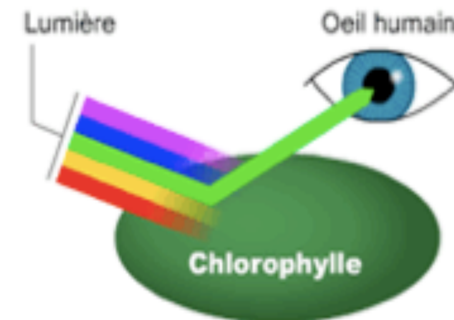
ε_{max} = 133000 $M^{-1}. cm^{-1}$

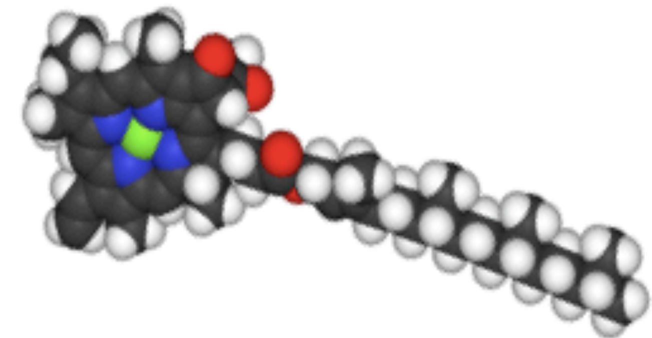
MIFOBIO 2008

Exemple : la chlorophylle

La chlorophylle a absorbe fortement à 430 nm (bleu) et 660 nm (rouge)



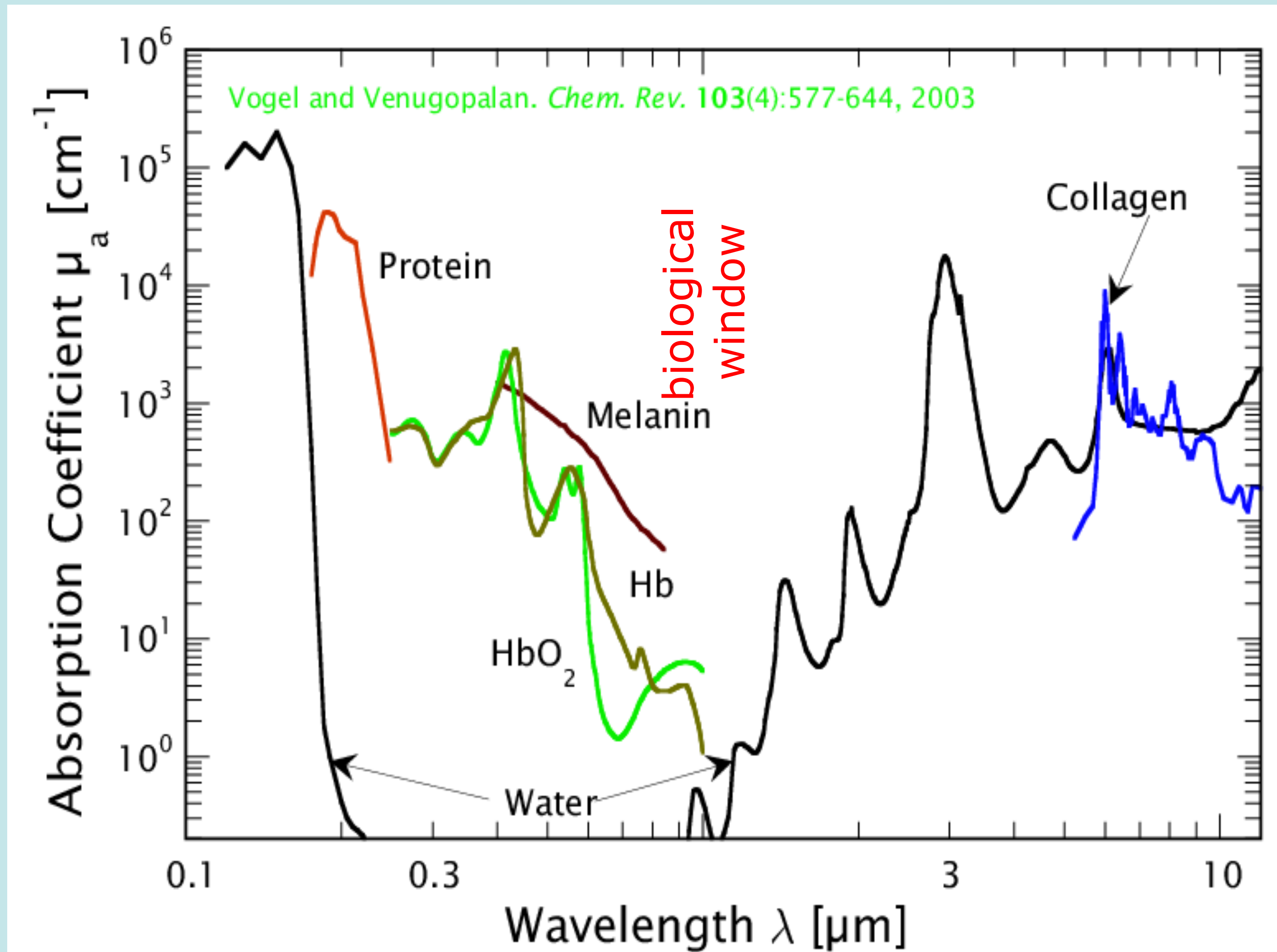




Molécule de chlorophylle a, en vert le magnésium, en bleu l'azote et en rouge l'oxygène

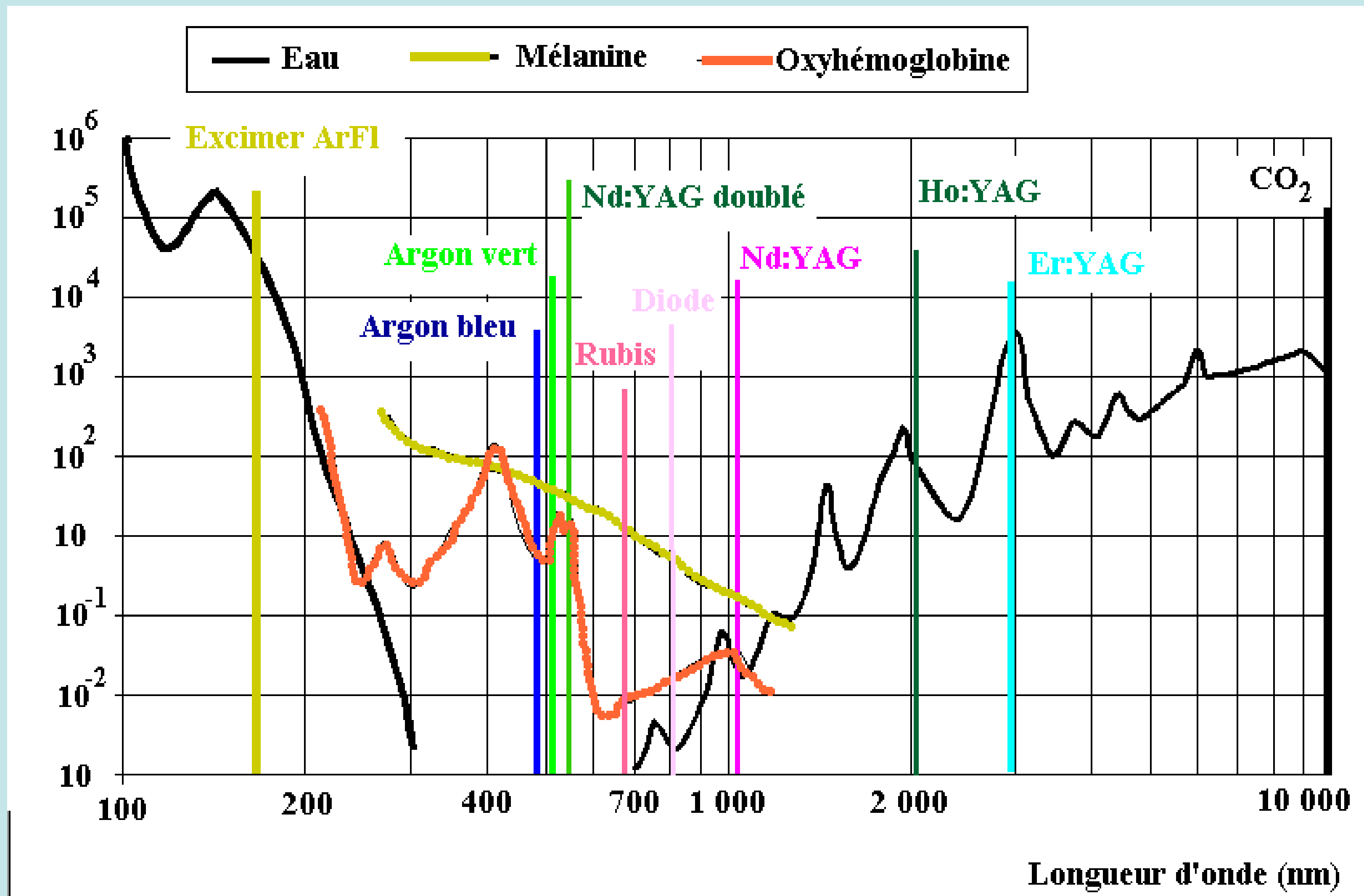
La chlorophylle est un pigment présent dans toutes les plantes vertes sur Terre. On estime que près d'un milliard de tonnes de chlorophylle sont synthétisées par les plantes chaque année sur toute la surface de la Terre.

Principaux Chromophores présents chez l'homme



Absorption des différents chromophores en fonction de la longueur d'onde

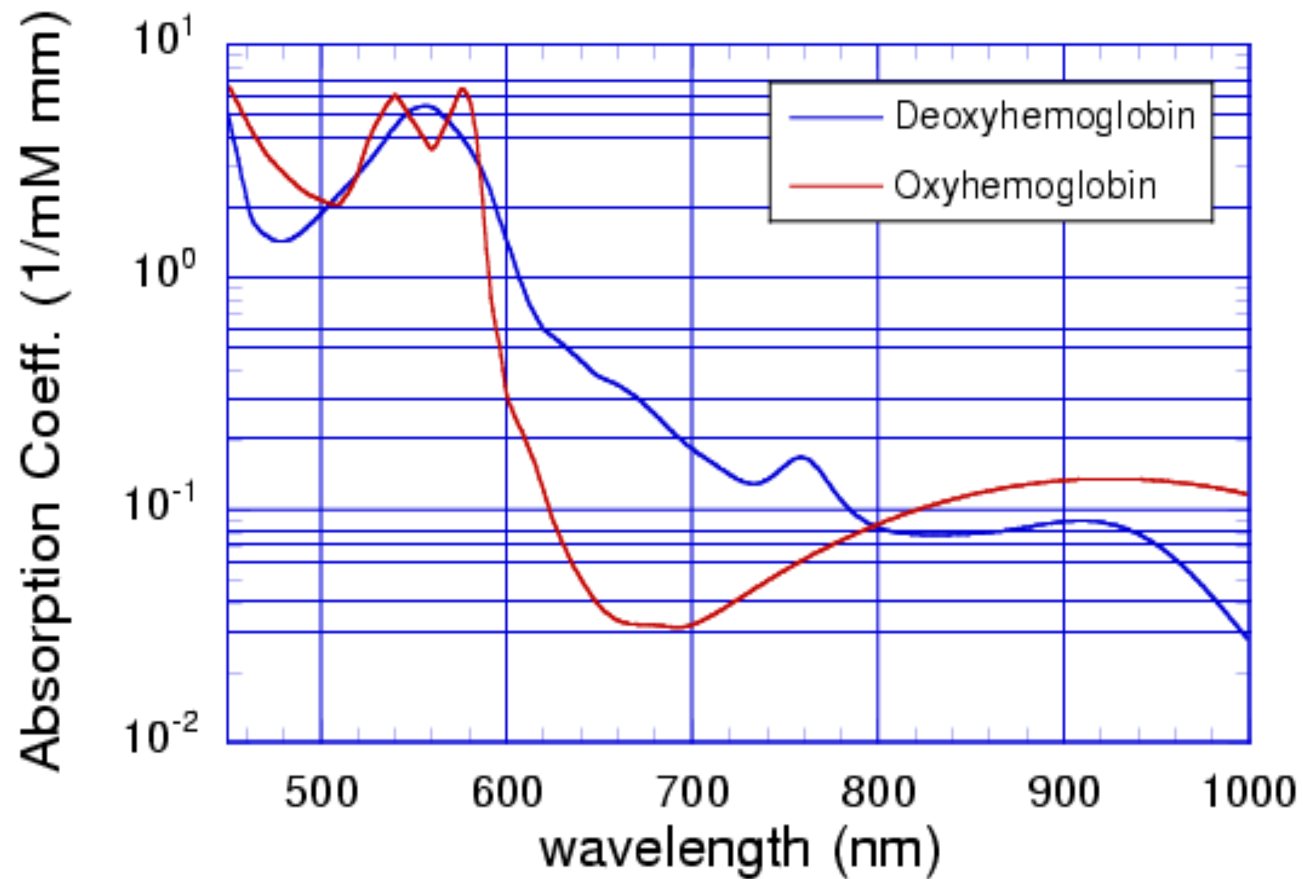
ABSORPTION TISSULAIRE



Absorption des différents chromophores en fonction de la longueur d'onde

ABSORPTION Hb et HbO_2

Hémoglobine



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE

Que peut-on mesurer?

- La substance à doser possède un pic d'absorption caractéristique UV-visible

→ dosage direct

- La substance à doser ne possède pas de pic d'absorption caractéristique

→ réaction colorée :

Substance incolore + réactif → produit coloré

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda.l.C$$

proportionnalité (loi de Beer-Lambert)

La loi de Beer-Lambert ne s'applique que pour de faibles valeurs de C



On se cale à une longueur d'onde donnée, caractéristique !
(ε dépend de la longueur d'onde)

Diapositive S. Bonneau

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE
Que peut-on mesurer?

proportionnalité (loi de Beer-Lambert)

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda.l.C$$

1- On connaît ε : **mesurer A_λ** et **calculer C** $A_\lambda = \varepsilon_\lambda.l.C \quad \Rightarrow \quad C = \dfrac{A_\lambda}{\varepsilon_\lambda.l}$

2- On ne connaît pas ε :

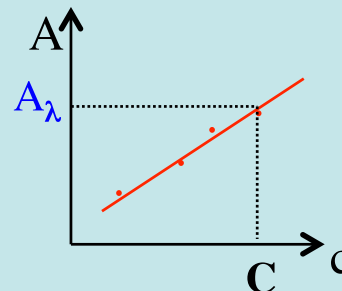
2.1- Méthode par comparaison avec un **étalon unique** (solution de concentration connue)

$$\left.\begin{array}{l}(A_\lambda)_e = \varepsilon_\lambda.l.C_e \\ A_\lambda = \varepsilon_\lambda.l.C\end{array}\right\} \quad \frac{(A_\lambda)_e}{C_e} = \frac{A_\lambda}{C} \quad \Rightarrow C = \frac{C_e\ .\ A_\lambda}{(A_\lambda)_e}$$

2.2- Méthode avec une **gamme d'étalonnage :** gamme de dilutions → **courbe d'étalonnage** A = f(c)

$$\left.\begin{array}{l}(A_\lambda)_{e1} = \varepsilon_\lambda.l.C_e \\ (A_\lambda)_{e2} = \varepsilon_\lambda.l.C_e/5 \\ (A_\lambda)_{e3} = \varepsilon_\lambda.l.C_e/10\end{array}\right\}$$

etc… puis **mesure** de A_λ



Détermination graphique

Diapositive S. Bonneau

→ permet de **vérifier la linéarité**, et tient compte des éventuelles erreurs de manipulation (tracé d'une droite statistique)